

© Мартовлос А. І.

УДК 616.716.85-018.4-003.923-092.9

Мартовлос А. І.

ОПТИМІЗАЦІЯ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ВІДРОСТКА В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Центр Стоматологічної Імплантації та Протезування ММ,
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького (м. Львів)

martovlos@gmail.com

Робота виконана в рамках науково-дослідних тем кафедри стоматології дитячого віку Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Стоматологічні захворювання у дітей з урахуванням еколого-соціальних чинників розвитку та обґрунтування диференційованих методів лікування і профілактики», № державної реєстрації 0110U002147.

Вступ. Розвиток скелету людини починається в ембріональному періоді, тоді як формування кісткової тканини альвеолярного відростка щелеп припадає на шестирічний вік — початковий період постійного прикусу. Відповідно альвеолярний відросток розглядають як «молоде» онтогенетичне утворення кісткових структур, «вразливість» якого залежить від впливу різних внутрішніх та зовнішніх факторів [2,5]. Кісткова тканина є метаболічно активною системою, в якій упродовж життя людини відбувається ремоделювання, що підтримує баланс між рівнем процесів резорбції та утворенням нової кісткової тканини. Порушення рівноваги в зубо-щелепній системі, що опосередковано виражається патологією оклюзії, проявляється як своєрідний біомеханічний еквівалент структурних змін кісткових структур, що здійснює руйнівний вплив на усі елементи зубо-щелепної системи, зокрема на ортодонтичний комплекс [6]. Слід відзначити, що відновлення і коригування структури кістки є процесами від яких, значною мірою, залежить ефективність ортодонтичного лікування та ймовірність розвитку рецидиву [2,6].

За останні десятиліття в експериментальних дослідженнях *in vivo* відтворені практично усі локальні й системні порушення, що відбуваються в скелеті людини, зокрема остеопоротичний процес. При остеопорозі зміни мінерального обміну на рівні усього організму відбуваються одночасно з інтенсифікацією резорбційних процесів кісткової тканини альвеолярних відростків. Разом з тим можна припустити існування взаємозв'язку між локальною резорбцією кістки альвеолярного відростка і системним остеопоротичним процесом скелету [5, 15].

Відомо, що протеоглікани та глікозаміноглікани беруть активну участь у формуванні кісткової тканини. Слід відзначити, що глікозаміноглікани ініціюють мінералізацію та формування міжклітинного матриксу, проявляють активність у розвитку та функціонуванні кісткової тканини, беруть участь в утворенні остеобластів із стромальних клітин кісткового мозку [13, 10, 14]. У кістковій тканині альвеолярних відрос-

тків щелеп група сульфатованих глікозаміногліканів представлена хондроїтинсульфатами, дерматансульфатом, кератансульфатом та гепарансульфатом, основні функції яких порушуються під час патологічного процесу [11,8].

З огляду на вищезазначене, **мета роботи** полягала у визначенні ефективності засобів оптимізації остеогенезу на основі глікозаміногліканів методом порівняльного макроскопічного та біометричного дослідження рівня резорбції кісткової тканини альвеолярного відростка нижньої щелепи щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводили на 200 білих нелінійних статевозрілих щурах-самках масою 320-350 г. Контрольну групу №1 склали 25 інтактних тварин. Упродовж 2-х місяців у решти 175 тварин, був змодельований системний остеопороз. Додавання у харчовий раціон тварин Трилону Б (Na_2EDTA , Sigma) упродовж двох місяців призводило до розвитку системних змін скелету, зокрема й кісткової тканини альвеолярного відростка щелеп [4]. Тварин групи №2 (n=25) відразу через 2 місяці після моделювання патологічного процесу виводили з експерименту для простеження важкості резорбції кісткової тканини альвеолярного відростка нижньої щелепи. Групу порівняння №3 склали 50 тварин, яким з метою фармакологічної корекції патологічного процесу кісток давали препарат «Остеогон» (Pierre Fabre Medicament Production, Франція) — осейн-гідроксиапатитний комплекс з розрахунку 0,126 мг/кг добової дози людини на одну тварину. Основна група №4 — 50 тварин, що отримували «Терафлекс®» (Contract Pharmacal Corporation, Bayer Consumer Care AG, США/Швейцарія), препарат на основі глюкозаміну гідрохлориду та натрію хондроїтину сульфату з розрахунку 0,094 мг/кг на одну тварину. Дозу обраних препаратів для тварин визначали з урахуванням коефіцієнта видової стійкості, виходячи з добової дози для людини [7]. Тварин групи-плацебо №5 (n=50) після припинення моделювання патологічного процесу переводили на звичайний раціон та не проводили фармакологічної корекції.

Матеріал відбирали через один і два місяці після лікування збільшивши дозу ефірного наркозу. Здійснювали скелетування альвеолярного відростка правої половини нижньої щелепи для макроскопічного дослідження. Кісткову тканину оцінювали методом біометрії за ступенем резорбції зубних комірок альвеолярного відростка. Визначали коефіцієнт ого-

лення коренів молярів нижньої щелепи справа за індексом Ніколаєвої-Розовської [3] за допомогою мікроскопа МБС-10 ОАО «ЛЗОС», РФ (окуляр із шкалою х8, збільшення лупи х2, при загальному збільшенні х16).

Досліди на тваринах виконували із дотриманням міжнародних норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes, Страсбург, 1986) [1] відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схвалених I-м Національним конгресом із біоетики (Київ, 2001).

Статистичне опрацювання проводили з використанням стандартних прикладних програм аналізуючи дані медико-біологічних досліджень. Результати представлені у вигляді середнього значення (M) стандартної похибки відхилення досліджуваного параметру (m) і показника достовірності (p) [9]. Різницю вважали достовірною, якщо $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Проведене макроскопічне дослідження скелетованої кістки нижньої щелепи у 25-ти інтактних тварин контрольної групи №1 дозволило встановити, що у ділянках 150 молярів нижньої щелепи правої половини альвеолярного відростка з язикового боку емалево-цементна межа, у більшості випадків, сягала емалево-цементного рівня (межі фізіологічної норми — $(38,05 \pm 2,92)\%$), **таблиця 1.** Вершини міжзубних переділок альвеол закруглені з широкою основою. В усіх зразках міжзубні переділки були вищими за міжкореневі і повністю заповнювали «арку» фуркаційних проміжків. Альвеолярна дуга мала виражений фестончастий рисунок.

Аналіз скелетованих кісток нижньої щелепи тварин групи №2 із змодельованим системним остеопорозом дозволив простежити наступні патологічні зміни альвеолярних відростків. Моделювання патологічного процесу в тварин призвело до рівномірного зниження висо-

Таблиця 1.
Стан кісткової тканини навколо коренів молярів нижньої щелепи експериментальних тварин до і після моделювання системного остеопорозу

Групи обстежених тварин	Рівень оголення коренів молярів нижньої щелепи справа		
	Абс.	M±m	p
Група №1 (інтактні тварини)	150	38,05±2,92	p<0,001
Група №2 (після моделювання системного остеопорозу)	150	61,01±5,00	p<0,001

ти міжзубних переділок, вершини яких знівельовані до форми площин. Міжзубні проміжки у більшості зразків виявились нижчими за рівень міжкореневих переділок. Внаслідок вертикальної, а в деяких ділянках і горизонтальної атрофії вершини міжкореневих переділок набули загостреної форми, стали вузькими і спричинили відкриття фуркаційних ділянок. Корені зубів повністю оголилися, внаслідок чого альвеолярний край втратив фестончастий вигляд —

Таблиця 2.
Вплив остеотропних препаратів на рівень кісткової тканини в ділянці молярів нижньої щелепи експериментальних тварин із системним остеопорозом

Групи обстежених тварин	Рівень оголення коренів молярів нижньої щелепи справа			
	Через 1 місяць після лікування		Через 2 місяць після лікування	
	Абс.	M±m	Абс.	M±m
Група №3	136	55,18±4,74 p1<0,002	130	49,80±4,38 p1<0,05
Група №4	150	45,99±3,76 p2<0,02	150	42,05±3,44 p2<0,002
Група №5	90	65,20±6,91 p1<0,001	60	67,55±8,77 p1<0,002

Примітки до таблиць:

абс. — загальна кількість обстежених коренів нижньої щелепи справа;

p — достовірність різниці між групою №1 (інтактні тварини) та групою №2 (після моделювання системного остеопорозу);

p₁ — достовірність різниці між групами №3, 5 (після лікування) та групою №1 (інтактні тварини);

p₂ — достовірність різниці між групою №4 (після лікування) та групою №2 (після моделювання системного остеопорозу).

Група №1 — інтактні тварини (n=25);

Група №2 — тварини (n=25), яким упродовж 2-х місяців моделювали системний остеопороз;

Група №3 — тварини (n=50), які після моделювання системного остеопорозу отримували препарат «Остеогенон»;

Група №4 — тварини (n=50), які після моделювання системного остеопорозу отримували препарат «Терафлекс®»;

Група-плацебо №5 — тварини (n=50), які після моделювання системного остеопорозу були переведені на звичайний раціон та не отримували лікування.

(61,01±5,00)% при нормі (38,05±2,92)% — у тварин з інтактним пародонтом ($p < 0,001$), **таблиця 1**.

В отриманому матеріалі тварин групи №3 після вживання препарату «Остеогенон» через 1 місяць відмічали поступове зменшення остеопоротичних явищ, що підтверджувалося зниженням рівня оголення коренів молярів до (55,18±4,74)%, порівняно із показниками інтактних тварин — (38,05±2,92)%, $p_1 < 0,002$ та тварин із системним остеопорозом до лікування — (61,01±5,00)%, **таблиці 1 і 2**. Застосування препарату «Остеогенон» впродовж двох місяців сприяло посиленню осифікації та стабілізації кісткової тканини альвеолярного відростка нижньої щелепи — (49,80±4,38)%, ($p_1 < 0,05$). Однак у 72% тварин закриття фуркаційних ділянок не простежувалося.

На фоні змодельованого патологічного процесу в тварини основної групи №4 після першого місяця лікування препаратом «Терафлекс®» показник рівня оголення коренів молярів нижньої щелепи справа становив (45,99±3,76)% ($p_2 < 0,02$), у той час як після другого місяця лікування даний показник знизився до (42,05±3,44)% ($p_2 < 0,002$), що достовірно наближався до показника (38,05±2,92)% інтактних тварин проти (61,01±5,00)% — у тварин групи №2 із змодельованим патологічним процесом (**табл. 1, 2**). Окрім того, у тварин групи №4 спостерігалось виразне підняття рівня кісткової тканини міжзубних та міжкороневих переділок, що відобразилось закриттям фуркаційних ділянок.

У групи-плацебо №5 відсутність лікування проявилась збільшенням резорбції кістки альвеолярного відростка нижньої щелепи. За відсутності лікування, через місяць показник рівня оголення коренів молярів сягав (65,20±6,91)%, $p_1 < 0,001$, а через два місяці — (67,55±8,77)%, $p_1 < 0,002$, що перевищувало показники групи №2 із змодельованим патологічним процесом — (61,01±5,00)% (**табл. 1, 2**). Після двох місяців перебування у такому стані в тварин групи-плацебо №5 відбувалося посилене випадіння молярів.

Отже, застосування біометричного методу в процесі експерименту дозволило простежити у цифрових значеннях динаміку змін у кістковій тканині альвеолярного відростка нижньої щелепи, а також визначити ступінь ефективності обраних ос-

теотропних препаратів. Виражено позитивною на процеси кісткоутворення проявилась дія препарату «Терафлекс®» на основі хондроїтину сульфату та глюкозаміну гідрохлориду, що є співзвучним до даних літератури стосовно трьох напрямків протекторного впливу сульфатованих глікозаміногліканів на кісткову тканину. Перший з напрямків полягає у збільшенні міцності та еластичності сполучної тканини, посиленні кровопостачання. Другий напрямок — стимуляція анаболічних та репаративних процесів сполучної тканини. Третім напрямком протекторної дії сульфатованих глікозаміногліканів є пригнічення активності лізосомних ферментів, що руйнують сполучну тканину [12].

Висновок. Отримані дані засвідчили можливості препарату на основі хондроїтину сульфату та глюкозаміну гідрохлориду не тільки знижувати інтенсивність резорбції кісткової тканини альвеолярних відростків при змодельованому остеопорозі, але й сприяти оптимізації репаративного остеогенезу. Суттєве збільшення рівня кісткової тканини альвеолярного відростка у тварин групи №4, які отримували препарат «Терафлекс®» підтвердило його високу ефективність.

Перспективи подальших досліджень. При комплексному лікуванні ортодонтичної патології перспективним є призначення остеотропних препаратів — медикаментів загальної дії на основі сульфатованих глікозаміногліканів, з метою, так званої, «кісткової ретенції» — інтенсифікації остеогенезу, як фактору профілактики рецидивів при лікуванні зубощелепних аномалій, зокрема у пацієнтів дорослого віку.

Література

1. Европейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 квітня 1996 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] Верховна Рада України. – Офіц. веб-сайт. – (міжнародний документ Ради Європи). – Режим доступу до документа: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.
2. Мірчук Б.М. Ретенція і стабілізація результатів ортодонтичного лікування / Б.М. Мірчук, В.Н. Горохівський, О.Б. Завойко // Світ ортодонції. — № 1. — 2006. — С. 15-18.
3. Николаева А.В. Экспериментальная дистрофия тканей пародонта / А.В. Николаева, Е.С. Розовская // Бюлл. экспер. биол. и мед. — 1965. — Т. 60, № 7. — С. 46-49.
4. Патент 2070031 С1 Россия А61К6/02 Способ лечения генерализованного пародонтита / Вишняк Г.Н., Григоров Ю.Г., Поворознюк В.В. [и др.] (РФ). — №93035895/14; заявл. 12.07.93; опубл. 10.12.96; ФИПС – 1996.
5. Поворознюк В.В. Костная система и заболевания пародонта / В.В. Поворознюк, И.П. Мазур. – К., 2003. — 446 с.
6. Reitan K. Реакция тканей на ортодонтическое передвижение зуба / К. Reitan // Современная ортодонтия. — 2013. — № 4 (34). — С. 54-57.
7. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Видавничий дім «Авіцена», 2001 – 528 с.

8. Сукманський О.І. Глікозаміноглікани (ГАГ) і кісткова тканина / О.І. Сукманський, В.Н. Горохівський // Вісник стоматології. – 2009. — № 3. – С. 113-118.
9. Юнкеров В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев. – С.-Пб.: ВмедА, 2002. – 266 с.
10. Chen X.D. The small leucine-rich proteoglycan biglycan modulates BMP-4-induced osteoblast differentiation / X.D. Chen, L.W. Fisher, P.G. Robey [et al.] // FASEB J. — 2004. — № 18. — P. 948-958.
11. Giannobile W.V. Glycosaminoglycans and periodontal disease: analysis of GCF / W.V. Giannobile, G.R. Riviere, J.P. Gorski, D.E. Tira // J. Periodontal. Res. – 1993. – Vol. 64. — № 3. – P. 186-190.
12. Iovu M. Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate / M. Iovu, G. Dumais, P. Souich // Osteoarthritis Cartilage. — 2008. — Vol. 16 (Suppl. 3). — P. 14-18.
13. Iozzo R.V. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function / R.V. Iozzo // Annu. Rev. Biochem. — 1998. — Vol. 67. — P. 609-652.
14. Manton K.J. Disruption of heparin and chondroitin sulfate signaling enhances mesenchymal stem cell-derived osteogenic differentiation via bone morphogenetic protein signaling pathways / K.J. Manton, D.F. Leong, S.M. Cool [et al.] // Stem. Cells. — 2007. — Vol. 25. — № 11. – P. 2845-2854.
15. N. von Wowern. General and oral aspects of osteoporosis / N. von Wowern // Clin. Oral Investig. — 2001. — № 5 (2). — P. 71-82.

УДК 616.716.85-018.4-003.923-092.9

ОПТИМІЗАЦІЯ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ВІДРОСТКА В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Мартовлос А. І.

Резюме. У статті висвітлено результати порівняльного макроскопічного та біометричного дослідження рівня резорбції кісткової тканини альвеолярного відростка нижньої щелепи на тлі експериментального системного остеопорозу в щурів до- і після лікування остеотропними препаратами, зокрема на основі глікозаміногліканів. Фармакологічну корекцію здійснювали препаратами «Остеогенон» і «Терафлекс®». В результаті дослідження найнижчий рівень резорбції кістки альвеолярного відростка нижньої щелепи простежували у групі, тварини якої отримували препарат «Терафлекс®». Через місяць після лікування показник рівня оголення коренів молярів нижньої щелепи становив $(45,99 \pm 3,76)\%$, $p_2 < 0,02$, у той час як після двох місяців лікування даний показник знизився до $(42,05 \pm 3,44)\%$, $p_2 < 0,002$, що наближувалося до $(38,05 \pm 2,92)\%$ — показника інтактних тварин (різниця статистично достовірна ($p_2 < 0,002$) порівняно з $(61,01 \pm 5,00)\%$ у тварин із змодельованим патологічним процесом до лікування. Таким чином, препарат на основі хондроїтину сульфату та глюкозаміну гідрохлориду «Терафлекс®» здатний не лише знижувати інтенсивність резорбції кісткової тканини альвеолярних відростків щелеп при змодельованому системному остеопорозі, але й сприяти оптимізації репаративного остеогенезу.

Ключові слова: експериментальні тварини, системний остеопороз, остеотропні препарати, глікозаміноглікани, нижня щелепа, біометричне дослідження.

УДК 616.716.85-018.4-003.923-092.9

ОПТИМІЗАЦІЯ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ КОСТНОЇ ТКАНИ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ОТРОСТКА В ЕКСПЕРИМЕНТЕ

Мартовлос А. И.

Резюме. В статье представлены результаты сравнительного макроскопического и биометрического исследования уровня резорбции костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти на фоне экспериментального системного остеопороза у крыс до и после лечения остеотропными препаратами, в частности и на основе гликозаминогликанов. Фармакологическую коррекцию проводили препаратами «Остеогенон» и «Терафлекс®». В результате исследования наиболее низкий уровень резорбции костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти наблюдали у животных, которых лечили с помощью препарата «Терафлекс®». В следствии лечения в течении месяца показатель уровня обнажения корней моляров нижней челюсти составил $(45,99 \pm 3,76)\%$, ($p_2 < 0,02$), а через два месяца лечения данный показатель снизился до $(42,05 \pm 3,44)\%$, ($p_2 < 0,002$), приближаясь к $(38,05 \pm 2,92)\%$ — показателю интактных животных (разница статистически достоверна ($p_2 < 0,002$) в сравнении с $(61,01 \pm 5,00)\%$ у животных после моделирования патологического процесса до лечения. В итоге, использование препарата на основе хондроитина сульфата и глюкозамина гидрохлорида «Терафлекс®» позволяет не только снижать интенсивность резорбции костной ткани альвеолярных отростков челюстей на фоне системного остеопороза, но и способствовать оптимизации репаративного остеогенеза.

Ключевые слова: экспериментальные животные, системный остеопороз, остеотропные препараты, гликозаминогликаны, нижняя челюсть, биометрическое исследование.

UDC 616.716.85-018.4-003.923-092.9

OPTIMIZATION OF ALVEOLAR BONE REPARATIVE OSTEOGENESIS IN EXPERIMENT

Martovlios A. I.

Abstract. The article displays the results of using a biometric method which is based on degree of resorption of dental alveolar bone cells by determining exposure ratio mandibular molar roots right.

Bone tissue is a metabolically active system, which is remodeling through life thus maintaining a balance between the levels of resorption processes and new bone formation. Infraction in the tooth-jaw system balance, that is

indirectly expressed through occlusion pathology, seen as a kind of biomechanical equivalent of structural changes in bone structures, which has a devastating effect on all elements dentition, including the orthodontic complex. It should be noted that the restoration and adjustment of bone structure is a process that largely depends on the effectiveness of orthodontic treatment and the probability of a relapse. Along with the important role of glycosaminoglycans of bone tissue mineralization, which initiate the formation of extracellular matrix, they are active in all phases of its development and operation. Goal was to determine the effectiveness of the optimization of osteogenesis based on glycosaminoglycans through a comparative basis with macroscopic and biometric study of alveolar bone resorption on mandible of rats.

Material and methods. 200 female rats were divided into 5 groups, one of which (group 1) included intact animals, and in four other groups systemic osteoporosis was modeled. Animal group 2 were derived from the experiment after simulation of systemic osteoporosis to trace pathological changes in alveolar bone. In groups 3 and 4 pharmacological correction of pathological process conducted with "Osteogenon" and "Teraflex®". Animals in the placebo group 5 were not treated. Material taken after one and two months after treatment. By carrying out skeletonization of the right mandibular bone the condition of the alveolar bone was examined macroscopically. The bone was biometrically evaluated by the degree of tooth resorption cells of the alveolar bone was. The bone was biometrically evaluated by the degree of alveolar sockets resorption. The exposure ratio of molar roots of the right mandibular bone was determined by Nikolayeva-Rozovskaia index.

Modeling a pathological process in experimental animals led to a uniform lowering of the interdental septi the tops of which are neutralized to fat planes. Interdental septums in most samples were below the level septi between roots. Because of vertical and some horizontal areas and atrophy of between root septum tops they acquired acute form, became narrower and led to the opening of furcation areas. The roots of the teeth fully bared, resulting in the loss of alveolar edge scalloped appearance – $(61.01 \pm 5.00)\%$ at a normal rate of $(38.05 \pm 2.92)\%$ — in animals with intact periodontal ($p < 0.001$). As a result of the pilot study the lowest alveolar bone resorption level in the mandible was traced in animal group 4, animals which received the drug on the basis of glycosaminoglycans "Teraflex®". A month after treatment the exposure indicator of mandibular molars was $(45.99 \pm 3.76)\%$ $p_2 < 0.02$, though after two months of treatment, this figure dropped to $(42.05 \pm 3.44)\%$, $p_2 < 0.002$, which was close to $(38.05 \pm 2.92)\%$ – index in intact animals. (Statistically significant difference ($p_2 < 0.002$) compared to $(61.01 \pm 5.00)\%$ animals with simulated pathological process before the treatment).

Thus, the drug based on chondroitin sulfate and glucosamine hydrochloride "Teraflex®" can not only reduce the intensity of alveolar bone resorption at modeled systemic osteoporosis, but also contribute to the optimization of reparative osteogenesis.

Keywords: experimental animals, systemic osteoporosis, osteotropic drugs, glycosaminoglycans, mandible, biometric research.

Рецензент – проф. Ткаченко П. І.
Стаття надійшла 18.04.2016 року